

**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno - biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Lucija Boras**

6860/PT

# **UTJECAJ VISOKOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET SOKOVA OD JABUKE**

ZAVRŠNI RAD

**Naziv znanstveno-istraživačkog ili stručnog projekta:** Primjena visokog hidrostatskog tlaka u proizvodnji funkcionalnih sokova na bazi voća i povrća (IP-2016-06-4006)

**Mentor:** doc. dr. sc. Danijela Bursać Kovačević

**Zagreb, 2018.**

## **DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

**Završni rad**

**Sveučilište u Zagrebu**

**Prehrambeno – biotehnološki fakultet**

**Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Zavod za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo**

**Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća**

**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti**

**Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija**

### **UTJECAJ VISOKOG HIDROSTATSKOG TLAKA NA ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET SOKOVA OD JABUKE**

***Lucija Boras, 0058204308***

**Sažetak:** Jabuka i sok od jabuke smatraju se dobrim izvorom biološki aktivnih spojeva (BAS) s pozitivnim djelovanjem na ljudski organizam. Od BAS-a u jabuci, najzastupljeniji su fenolni spojevi i vitamin C. Izniman doprinos jabuke i sokova od jabuke ističe se sastavom i strukturom fenolnih spojeva, koji se odlikuju visokom biodostupnošću te značajnim antioksidacijskim kapacitetom (AOK). AOK predstavlja sposobnost molekula antioksidansa da inhibiraju oksidacijske procese bilo reakcijom neutralizacije slobodnih radikala, keliranjem metala ili inhibiranjem enzima. Obzirom je u izravnoj vezi sa prisutnim BAS, AOK se značajno mijenja tijekom prerade i skladištenja, stoga je potrebno posebno obratiti pažnju na optimiranje procesa obrade VHT kao i režima skladištenja. Postoje različiti podaci u literaturi o utjecaju VHT parametara na AOK, no većina autora potvrdila je da se AOK bolje očuva primjenom nižih tlakova uz kraće vrijeme tretiranja. Parametri koji tijekom skladištenja negativno utječu na stabilnost BAS-a, uglavnom će se negativno manifestirati i na stabilnost AOK.

**Ključne riječi:** sok od jabuke, visoki hidrostatski tlak (VHT), antioksidacijski kapacitet (AOK), biološki aktivni spojevi (BAS)

**Rad sadrži:** 25 stranica, 6 slika, 1 tablicu, 37 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** doc. dr. sc. Danijela Bursać Kovačević

**Datum obrane:** 9. srpnja 2018.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Bachelor thesis**

**University of Zagreb**

**Faculty of Food Technology and Biotechnology**

**University undergraduate study Food Technology**

**Department of Food Engineering**

**Laboratory of Food Preserving and Fruit and Vegetable Processing**

**Scientific area: Biotechnical Sciences**

**Scientific field: Food Technology**

### **EFFECTS OF HIGH PRESSURE PROCESSING (HPP) ON ANTIOXIDANT CAPACITY OF APPLE JUICES**

***Lucija Boras, 0058204302***

**Abstract:** Apple and apple juice are considered to be good sources of biologically active compounds (BAC) with positive impact on human organism. Phenolic compounds and vitamin C are the most commonly present BAC in apples. Extraordinary contribution of apple and apple juice is seen in composition and structure of phenolic compounds, which are characterized with high bioavailability and significant antioxidant capacity (AOC). AOC is the ability of antioxidant molecule to inhibit oxidation processes, either by neutralizing free radicals, chelating metals or enzyme inhibiting. Considering that AOC is directly connected to BAC, AOC are being significantly changed during processing and storing, so it is necessary to pay attention to optimizing the HPP process as well as storage regime. There are different literature data about the impact of HPP parameters on AOC, but most of the authors claim that AOC are better preserved if lower pressure is applied for a shorter period of time. Parameters that have negative impact on BAC stability during storage are most commonly manifested negatively on AOC stability.

**Keywords:** apple juice, high hydrostatic pressure (HPP), antioxidant capacity (AOC), biologically active compounds (BAC)

**Thesis contains:** 25 pages, 6 figures, 1 table, 37 references

**Original in:** croatian

**Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** PhD Danijela Bursać Kovačević, Assistant professor

**Defence date:** 9th July 2018

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	<b>2</b>
2.1. Jabuka .....	2
2.1.1 Nutritivni i biološki značaj jabuke .....	4
2.1.2. Sok od jabuke .....	6
2.1.3. Antioksidansi i antioksidacijski kapacitet .....	9
2.1.4. Antioksidacijski kapacitet soka od jabuke.....	12
2.2. Visoki hidrostatski tlak .....	13
2.2.1. Primjena VHT-a u industriji voćnih sokova .....	14
2.2.2. Utjecaj VHT-a na antioksidacijski kapacitet voćnih sokova.....	15
<b>3. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>18</b>
<b>4. LITERATURA.....</b>	<b>19</b>

## 1. UVOD

Moderno tržište danas postavlja zahtjeve za prehrambenim proizvodima koji su svojim izgledom i okusom što sličniji izvornoj, neprerađenoj sirovini, a istovremeno udovoljavaju visokim kriterijima nutritivne i mikrobiološke kvalitete, što pred proizvođače postavlja izazove ispitivanja mogućnosti primjene novih tehnologija. Uz niz prednosti nad dosad korištenim konvencionalnim tehnologijama, ove tehnologije mogu imati i nekih nedostataka, stoga se prije njihove šire upotrebe trebaju istražiti efekti njihovog utjecaja na nutritivnu i mikrobiološku kvalitetu proizvoda.

Jabuka je široko rasprostranjena poljoprivredna kultura koja se svakodnevno koristi u ljudskoj prehrani diljem svijeta. Dobar je izvor vitamina, minerala i vlakana, ali i bioloških aktivnih spojeva (BAS) koji svojim antioksidacijskim djelovanjem štite ljudski organizam od oksidacijskog stresa. Antioksidacijski kapacitet predstavlja sposobnost antioksidansa da reducira neki oksidans, pri čemu su antioksidansi molekule koje mogu donirati jedan elektron i/ili vodikov atom nekom reaktivnom, slobodnom radikalu. Na taj način neutraliziraju slobodne radikale čime preventivno djeluju na zdravlje ljudskog organizma. Brojne tvari u jabuci posjeduju antioksidacijsko djelovanje, poput vitamina C i E te polifenolnih spojeva. Treba istaknuti da u usporedbi sa preostalim voćnim vrstama, jabuka posjeduje najveći udio slobodnih polifenolnih spojeva, čime je biodostupnost ovih antioksidanasa značajno uvećana.

Jabuka se konzumira bilo svježa, ili prerađena u različite proizvode, gdje se posebice ističu bistri i mutni sokovi od jabuke, veoma popularni kod potrošača. Ipak, na tržištu su više zastupljeni bistri sokovi od jabuke, obzirom ga potrošači smatraju prihvatljivijim u odnosu na mutne. Postupkom bistrenja soka uklanjaju se visokovrijedni sastojci poput dijetalnih vlakana, polisaharida pa i nekih BAS-a, čime se izravno smanjuje vrijednost antioksidacijskog kapaciteta soka. Stoga, prednost bi ipak trebalo pružiti mutnim sokovima od jabuke, obzirom je njihov doprinos zdravstvenim učincima kudikamo veći.

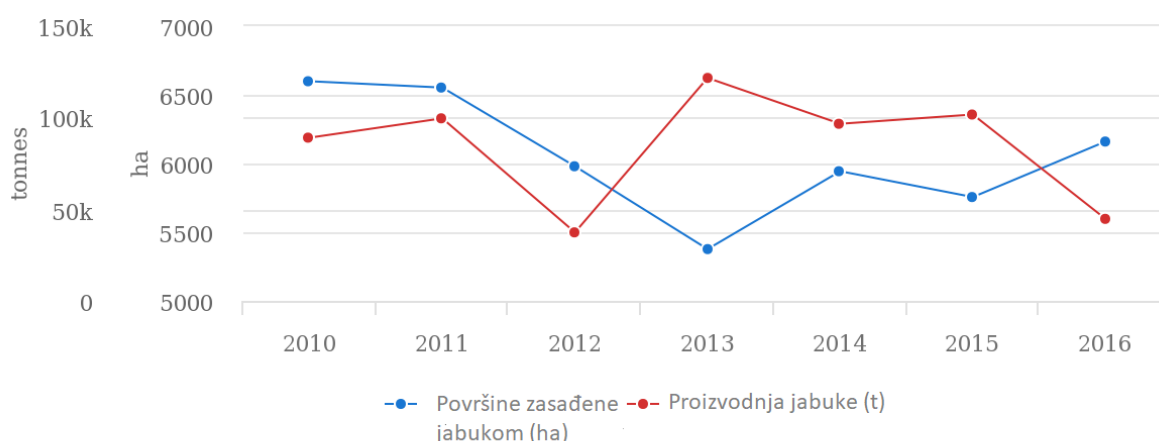
Na temelju svega iznesenog, cilj ovog rada bio je pretražiti znanstvenu literaturu o utjecaju nove tehnologije poput obrade visokim hidrostatskim tlakom (VHT) na stabilnost antioksidacijskog kapaciteta u bistrim i mutnim sokovima od jabuke, obzirom je poznato da ova tehnologija ima odličan učinak na mikrobiološku inaktivaciju i produžetak trajnosti namirnica te se sve više primjenjuje u industrijskom sektoru.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Jabuka

Jabuka (lat. *Malus domestica*) je drvenasta višegodišnja biljka iz porodice ruža (lat. *Rosaceae*) te najrasprostranjenija voćna vrsta s više od 10.000 različitih sorata (Janick i sur., 1996). Plod jabuke je svakodnevno korišten u raznim kulturama, od Sibira do Kolumbije, prvenstveno zbog svojstava same biljke koja je izdržljiva i prilagodljiva. U nekim dijelovima svijeta jabuka rađa i dva puta godišnje. Plod jabuke se može konzumirati u svježem stanju ili prerađen u različite proizvode, pa se tako od jabuke može raditi čips, želirani proizvodi, koncentрати, „fresh-cut“ proizvodi, sokovi i dr. Posebno je zanimljiva prerada jabuke u sok, obzirom se ovisno o primjenjenoj tehnologiji mogu proizvoditi bistri, mutni ili tzv. smoothie sokovi (Włodarska i sur, 2017).

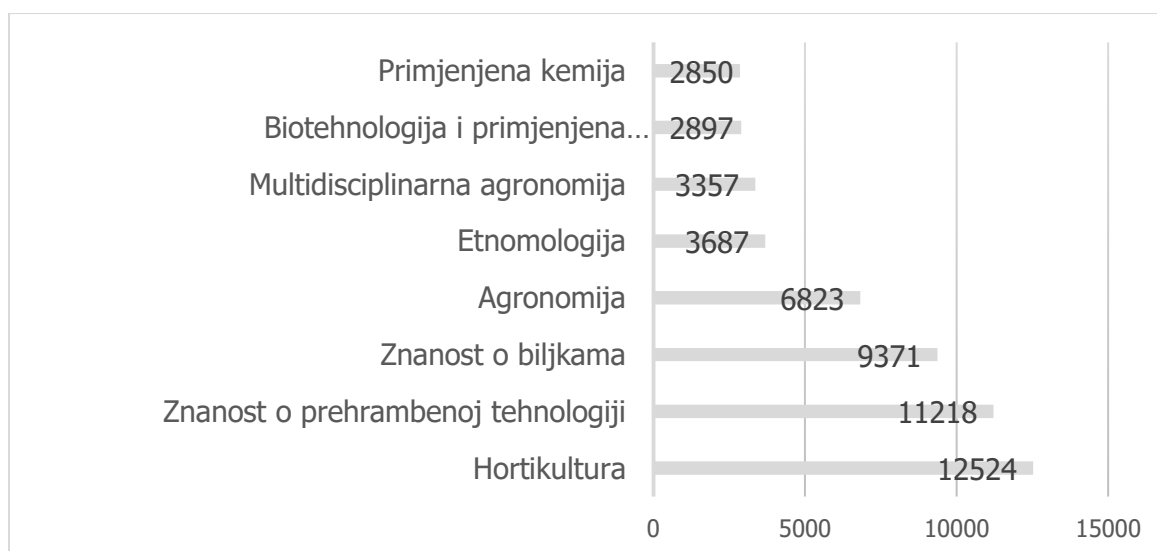
Uzgoj jabuke u RH varira ovisno o godini, kao i o brojnim drugim ekonomskim i okolišnim uvjetima, a na slici 1 dan je grafički prikaz površine zasađenih voćnjaka jabuke (ha) i količine proizvedene jabuke (t) od 2010. do 2016. godine. Na prikazu je vidljivo da je porast/pad površine zasađene jabukom u skladu s prinosom/padom proizvodnje jabuke do 2012. godine. Obrnut trend je zabilježen od 2012. godine gdje porast površina zasađenih jabukom nije nužno rezultirao i većim prinosom jabuke. Ipak, općenito gledajući, svjetski trend pada proizvodnje jabuke prisutan je i kod nas, pa je tako proizvodnja jabuke pala s 59,124 tona (2010) na 44,781 tona (2016) (FAOSTAT, 2018).



Source: FAOSTAT (Mar 12, 2018)

**Slika 1.** Grafički prikaz površine zasađenih voćnjaka jabuke (ha) i količine proizvedene jabuke (t) od 2010. do 2016. godine (FAOSTAT, 2018)

Jabuka je veoma istražena voćna vrsta sa preko 58 000 objavljenih znanstvenih publikacija na Web of Science (WoS) platformi (od 1998 godine), pri čemu veliki udio pripada istraživanjima vezanim uz znanost o prehrambenoj tehnologiji (Slika 2), što se svakako može pripisati nutritivnom i biološkom značaju jabuke. Primjerice, Boyer i Hai Liu (2004) navode kako svježa jabuka ima značajno veći udio slobodnih polifenolnih spojeva u usporedbi s ostalim voćnim vrstama, čime je biodostupnost ovih spojeva veća, a time i zdravstveni aspekt jače naglašen. Također, jabuka je voće s izrazitom antioksidacijskom aktivnošću, a rezultati istraživanja Kschonsek i sur. (2018) upućuju da mu najviše doprinosi sadržaj vitamina C. Nadalje, postoje razni epidemiološki dokazi koji ukazuju da polifenoli iz jabuke pozitivno utječu na kardiovaskularna i tumorska oboljenja te djeluju inhibitorno na proces lipidne oksidacije i snizuju količinu LDL kolesterola (Bondonno i sur., 2018, Tu i sur., 2016, Thilakarathna i Rupasinghe, 2013).



**Slika 2.** Prikaz objavljenih znanstvenih publikacija na Web of Science (WoS) platformi sa pojmom jabuke u ključnoj riječi (eng. *apple*)

### 2.1.1. Nutritivni i biološki značaj jabuke

Prema podacima „National Nutrient Database“ američkog ministarstva poljoprivrede, 100 g jabuke prosječno sadrži 85.56 g vode, 13.81 g ugljikohidrata, 0.26 g proteina, 0.17 g masti, 0.19 g pepela (minerala). Najzastupljeniji šećer je fruktoza (5.90 g), zatim glukoza i saharoza. Od minerala, jabuka sadrži kalij, fosfor, kalcij, magnezij, natrij, željezo i cink. Jabuka je posebno bogata prehranbenim vlaknima (2.4 g/100 g) među kojima je najzastupljeniji pektin. Usporavajući razgradnju šećera i masti, vlakna djeluju na kontrolu razine šećera u krvi i tako pogoduju unapređenju ljudskog zdravlja. Prehrambena vlakna smanjuju rizik od mnogih oboljenja poput kardiovaskularnih bolesti, nekih tipova karcinoma te gastrointestinalnih bolesti. Također, vlakna mogu imati utjecaj na hipertenziju, pretilost i dijabetes i to smanjujući količinu LDL kolesterola i triacilglicerola u krvi (Anderson, 1990).

Jabuka sadrži vitamine topljive u vodi (C, B1, B2, B3, B6 i B9) kao i vitamine topljive u mastima (A, K i E). Najzastupljeniji je vitamin C kojeg prosječno ima oko 4 mg/100 g ploda jabuke. Od vitamina topljivih u mastima, 100 g jabuke sadrži prosječno 0,05 mg vitamina E, 0,60 µg vitamina K te 2 µg vitamina A (USDA, 2018).

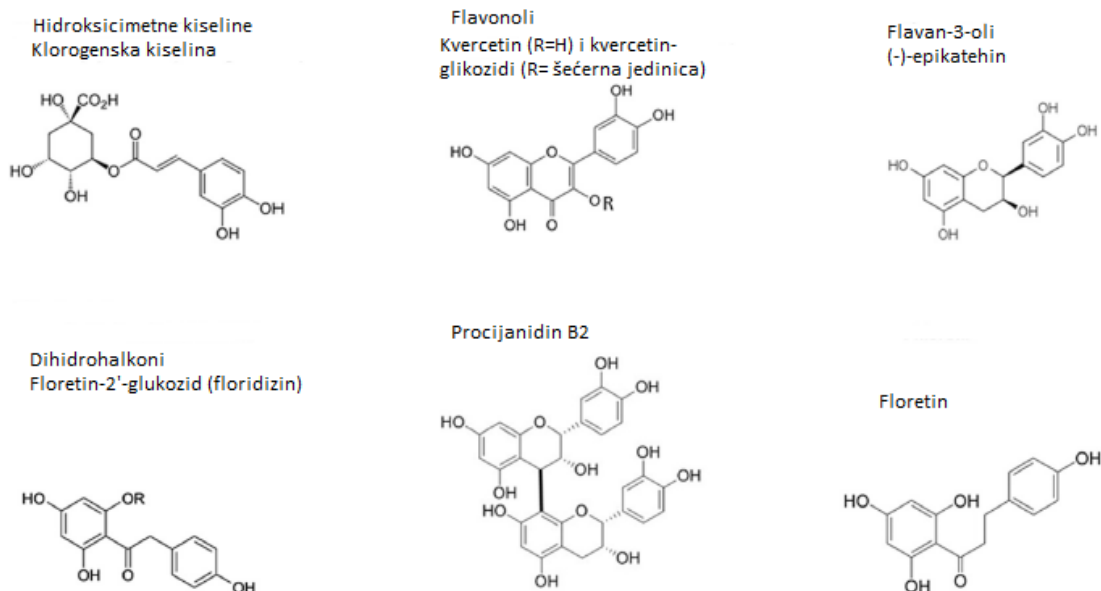
Nadalje, jabuke se smatraju vrlo dobrim izvorom različitih biološki aktivnih spojeva (BAS) kojima se pripisuju značajna antioksidacijska svojstva. U jabuci su od BAS-a najzastupljeniji polifenoli, od kojih najviše ima flavanola (71-90 %). Prisutne su još i hidrokisimne kiseline (4-18 %), flavonoli (1-11 %), dihidrohalkoni (2-6 %) i antocijanini isključivo u jabukama s crvenom korom (1-3 %) (Slika 3) (Vrhovsek i sur., 2004). Iako jabuka sadrži visok udio fitokemikalija s antioksidacijskom aktivnošću, u nekoliko je istraživanja potvrđen izraženi antikancerogeni i antiproliferalni kapacitet floretina. Floretin je fenolni spoj koji u ljudskom organizmu potiskuje rad glukoznog transportera GLUT2 u nekim tkivima. Dokazano je djelovanje floretina na rast stanica raka kod oboljelih od leukemije, melanoma i raka mjehura (Wu i sur., 2009). Dokazano je i njegovo antikancerogeno djelovanje na stanice raka jetre, kada se kombinira s drugim spojevima. U istraživanju Yang i sur. (2008) korištena je dnevna doza floretina od 10 mg/ kilogramu tjelesne mase, a rezultati studije pokazuju da je uočen povoljan učinak na organizam. Osim djelovanja na stanice raka, floretin dokazano ometa rad mnogih intracelularnih signalizirajućih puteva i reducira produkciju upalnih citokina i kemokina pa tako štiti od upalnih procesa (Tu i sur., 2016).

Količina BAS-a u plodu jabuke ovisi o mnogim čimbenicima poput sorte i uvjeta uzgoja (Kschonsek i sur., 2018, Vrhovsek i sur., 2004). Kschonsek i sur. (2018) su došli do zanimljivih rezultata tijekom istraživanja količine polifenola i vitamina C u starim i novim



kultivarima jabuke uzveši u obzir cijele plodove jabuka. Koristeći Folin-Ciocalteu metodu i HPLC, dokazali su da stare sorte (Berlepsch, Cox Orange, Dulmer Rosenapfel, Goldparmane, Gravensteiner, James Grieve, Jonathan, Oldenburger, Ontario i Roter Boskoop) sadrže i do 30% više fenolnih spojeva od novih sorti (Braeburn, Elstar, Golden Delicious, Granny Smith, Jonagold). Istovremeno, količina polifenolnih spojeva i vitamina C se nije značajno razlikovala u korama starih i novih sorti. Razlog tomu pripisan je zaštitnoj ulozi BAS-a koji se formiraju uslijed izloženosti plodova sunčevom zračenju. U zaključku autori preporučuju uključiti stare sorte jabuka poput Jonathana, Ontaria i Oldenburgera u svakodnevnu prehranu.

Rezultati nekih istraživanja navode da postoji značajna razlika između količine polifenola u mesnatom dijelu i kori jabuke, pri čemu kora jabuke sadrži prosječno 46 % od ukupnih polifenola iz cijelog ploda (Shahidi i Ambigiapalan, 2015). Prema istraživanju Wolfe-a i suradnika (2003), u kori sorata Idared i Rome Beauty određene su najveće količine fenolnih spojeva te se smatraju sortama s najvišom antioksidacijskom aktivnošću i najvišim sadržajem flavonoida.



**Slika 3.** Kemijske strukture najzastupljenijih polifenola u jabuci (Tu i sur., 2016)

BAS u ljudskom organizmu djeluju kao antioksidansi te tako štite organizam od visokoreaktivnih slobodnih radikala, kojima doniraju proton i/ili elektron, pa ih na taj način stabiliziraju. U jabuci su zastupljeni predstavnici različitih skupina polifenolnih spojeva (Slika 3), a već je od ranije istraživanjem odnosa struktura-aktivnost (engl. *Structure Activity Relationship*, SAR) dokazana povezanost točno određenih strukturnih komponenata s mogućnošću „gašenja“ radikala i stvaranja kelatnih kompleksa (Shahidi i Ambigiapalan, 2015).

Nastavno na dokazane mehanizme djelovanja polifenola kao antioksidanasa, provedena su i mnoga istraživanja o utjecaju polifenola iz jabuke na zdravstvene aspekte u ljudi i životinja. Istraživanje provedeno na 25 zdravih pojedinaca pokazalo je da dvotjedna konzumacija soka od jabuke utječe na povišeni ukupni antioksidacijski kapacitet i sniženu koncentraciju malondialdehida u plazmi. Također, dokazano je da floretin inhibira proliferaciju stanica raka pluća te onemogućuje njihovu migraciju. Pokazao je i pozitivno djelovanje na stanice kolorektalnog raka i obećavajuće pomake u istraživanju proliferacije stanica raka dojke, melanoma i leukemije, smanjujući unos glukoze u stanicu inhibiranjem transmembranskog prijenosa glukoze (Tu i sur., 2016).

### **2.1.2. Sok od jabuke**

Prema pravilniku o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namijenjenima za konzumaciju (NN 48/2013), voćni sok se definira kao „proizvod koji može fermentirati ali je nefermentiran, a proizvodi se od jestivog dijela voća koje je zdravo, svježe ili konzervirano hlađenjem ili smržavanjem jedne ili više vrsta pomiješanih zajedno, a ima boju, aromu i okus karakterističan za sok od voća od kojega potječe.“ Ti su propisi u skladu s Codex Alimentarius-om Europske unije, jednako kao i podjela voćnih sokova i njima sličnim proizvodima.

Sok od jabuke posebno je popularan voćni sok, što pokazuje njegovo visoko rangiranje među potrošačima u Europi. Podaci s Eurostat-a pokazuju da je sok od jabuke treći najpopularniji proizvod od voća, odmah nakon soka od naranče i kečapa od rajčice. U razdoblju od 2008. do 2016. godine, 28 članica Europske unije proizvelo je otprilike 2,1 milijarde litara soka od jabuke. Statistika EU pokazuje da su najveći proizvođači soka od jabuke po godini Njemačka (854,4 milijuna litara), zatim Poljska (487,4 milijuna litara) i Ujedinjeno Kraljevstvo (175,5 milijuna litara) (Statista, 2018).

Općenito, ovisno o tehnologiji proizvodnje, sok od jabuke se može podijeliti na bistre i mutne. Početak njihove proizvodnje se ne razlikuje, a završni koraci procesa čine razliku kod konačnog proizvoda. Kod bistrih sokova se na kraju proizvodnje uklanjaju pulpa i pektin, pa je u konačnom produktu sadržana većinom voda i tvari topljive u vodi. Mutnim se sokovima uklanja samo pulpa, dok pektin zaostaje pa je tako konačni proizvod neproziran, s fino dispergiranim koloidnim česticama.

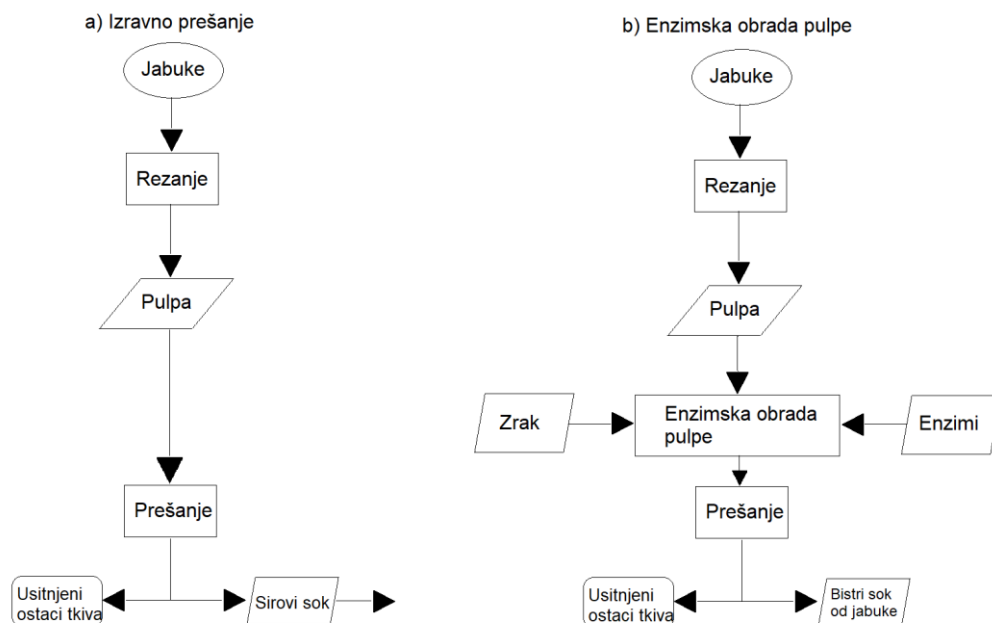
U proizvodnji soka od jabuke, prvi koraci su standardizirani bez obzira na konačni produkt. Sirovina se najprije prihvaća, zatim sortira i pere te melje. Nakon mljevenja slijedi prešanje koje se vrši u hidrauličkim prešama. Hidrauličke preše istiskuju sok iz sitno izmljevenog tkiva ploda pod visokim tlakom kroz porozni materijal. Tako je omogućeno odvajanje soka od krupnijih, netopljivih čestica (Nirmal i sur, 2012). Iskorštenje prešanja iznosi 70-85%, ovisno o sorti jabuke i njezinoj zrelosti te vrsti prešanja (Root i Barrett, 2004). Van Der Sluis i suradnici (2002) navode da je moguće povećati iskorištenje procesa ako se tkivo jabuke bolje usitni (s dimenzija 3 x 3 x 10 mm na 3 x 3 x 3 mm) te ako se masi koja zaostaje nakon prešanja doda voda i ponovno se provede prešanje.

Ako se kao želi proizvesti bistri sok od jabuke, sok se nakon prešanja tretira pektolitičkim enzimima, a zatim slijedi dekantiranje, centrifugiranje i filtracija, kako bi se uklonio zaostali hidrolizirani pektin i tako dobio sok visoke bistroće. Kod proizvodnje mutnih sokova nakon prešanja slijedi stabilizacija pulpe kako bi se održala mutnoća i onemogućilo taloženje. Završni koraci kod proizvodnje obje vrste soka su deaeracija, pasterizacija i punjenje u ambalažu i zatvaranje (Jorge i sur, 2006).

Pektolitički enzimi se mogu dodavati u proizvodnji soka i kako bi se povećalo iskorištenje procesa. Prema Van Der Sluis i sur. (2002) direktnim prešanjem jabuke sorte Jonagold iskorištenje iznosi otprilike 46 %. Međutim, nakon primjene pektolitičkih enzima, prinos soka je porastao na 80 %. Na slici 4 prikazana je shema proizvodnje sirovog soka i soka tretiranog enzimima.

Mutnoći soka od jabuke značajno doprinose polifenoli, proteini te polisaharidi. Praćenje sastava mutnog soka provedeno je u istraživanju Millet i sur. (2017) u kojem je dokazano da polisaharidi (pektin i hemiceluloza) stupaju u interakcije s proteinima i tako stvaraju molekularne komplekse koji mogu agregirati i nakon nekog vremena potaknuti taloženje. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da udio polifenola, polisaharida i proteina u mutnom soku varira, međutim glavni konstituenti koji su održavali mutnoću soka su bili procijanidini.

U soku su pronađeni i metali (željezo i bakar) za koje se smatra da su katalizatori za stvaranje agregata u mutnom soku.



**Slika 4.** Sheme procesa proizvodnje soka od jabuke (sorta Jonagold). Usporedba direktnog prešanja (a) i enzimske obrade pulpe prije prešanja (b) (Van Der Sluis i sur., 2002)

Budući se bistenjem soka uklanjaju kompleksi polisaharida, polifenola i proteina, u bistrom soku se dokazano nalazi manja koncentracija BAS-a. Candrawinata i sur. (2012) su dokazali da bistri sokovi sadrže 3 puta manju koncentraciju BAS-a nego mutni sokovi od jabuke (160.4 mg/L vs. 462.2 mg/L).

### 2.1.3. Antioksidansi i antioksidacijski kapacitet

Antioksidansi su kemijske tvari koje sprečavaju oksidaciju spojeva podložnih oksidaciji, a u biološkim sustavima onemogućuju djelovanje slobodnih radikala (oksidansa) kad su oni u štetnom suvišku tj. kad je koncentracija slobodnih radikala veća nego što je potrebno za odvijanje normalnih fizioloških procesa. Antioksidansi inaktiviraju djelovanje slobodnih radikala pa tako zaustavljaju lančanu reakciju stvaranja novih radikala i sprječavaju njihovo štetno djelovanje. Osim što sprječavaju neželjene procese oksidacije, antioksidansi mogu doprinjeti smanjenju oštećenja nastalih djelovanjem slobodnih radikala (Sarangarajan i sur., 2017). Slobodni radikali su molekule koje imaju nespareni elektron i stoga su izuzetno reaktivni. U živom organizmu proizvode se pri normalnim fiziološkim procesima te imaju vrlo važnu ulogu u odvijanju brojnih funkcija, osobito u međustaničnoj komunikaciji, gdje uvelike potpomažu u obrani od bakterija i drugih štetnih agensa. Kada se nađu u suvišku, narušavaju stabilnost drugih molekula u okolini da bi postigli vlastitu ravnotežu, pokreću nepoželjne lančane reakcije koje dovode do oksidativnog stresa, zbog čega nastaju oksidativna oštećenja biomolekula, oštećenja tkiva, smrt stanica i različite bolesti. Radikali se obično stabiliziraju delokalizacijom elektrona, stvaranjem intramolekularnih vodikovih veza ili daljnjom reakcijom s drugim lipidnim radikalom (Shen i Ji, 2017).

Tvari koje imaju sposobnost djelovanja kao antioksidansi su enzimi (superoksid dismutaza, glutation peroksidaza, katalaza, i dr.), velike molekule (albumin, ceruloplazmin, feritin, te drugi proteini), male molekule (askorbinska kiselina, glutation, urična kiselina, tokoferol, karotenoidi, polifenoli, i dr.) te hormoni (estrogen, angiotensin, melatonin, i dr.) (Kurutas, 2016; Sindhi i sur, 2013; Prokai i sur., 2006; ). U Tablici 1. dan je prikaz reaktivnih spojeva s kisikom i dušikom na koje djeluju antioksidansi.

**Tablica 1.** Reaktivni spojevi s kisikom i dušikom (Bendary i sur., 2013)

<b>Reaktivni spojevi s kisikom (ROS, eng. <i>Reactive oxygen species</i>)</b>	
<b>RADIKALI</b>	<b>NE-RADIKALI</b>
Superoksid ( $O_2^{\bullet}$ )	Vodikov peroksid ( $H_2O_2$ )
Hidroksilni radikal ( $HO^{\bullet}$ )	Hipokloritna kiselina ( $HOCl$ )
Peroksilni radikal ( $RO_2^{\bullet}$ )	Singlet kisik ( $^1O_2$ )
Alkoksilni radikal ( $RO^{\bullet}$ )	Ozon ( $O_3$ )
Hidroperoksilni radikal ( $HO_2^{\bullet}$ )	Hipobromna kiselina ( $HOBr$ )

<b>Reaktivni spojevi s dušikom (RNS, eng. <i>Reactive nitrogen species</i>)</b>	
Dušikov oksid (NO <sup>•</sup> )	Nitritna kiselina (HNO <sub>2</sub> )
Dušikov dioksid (NO <sub>2</sub> <sup>•</sup> )	Nitrozil kation (NO <sup>+</sup> )
	Nitronijev kation (NO <sup>2+</sup> )
	Dinitrogen tetraoksid (N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> )
	Dinitrogen trioksid (N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )
	Peroksinitrit (ONOO <sup>-</sup> )
	Nitril klorid (NO <sub>2</sub> Cl)
	Alkil peroksinitrat (ROONO <sup>-</sup> )

Antioksidacijski kapacitet (Total Antioxidant Capacity, TAC) je pojam koji se koristi kako bi se kvalitativno ocijenila učinkovitost djelovanja antioksidansa. Prema pregledu članaka o nutricionizmu, definicija TAC-a formulirana je kao „kumulativno djelovanje svih antioksidansa prisutnih u plazmi i tjelesnim tekućinama, čime se osigurava integrirani parametar a ne jednostavna suma mjerljivih antioksidansa.“ (Ghiselli i sur, 2000). Istraživanja antioksidacijskog kapaciteta mogu se provoditi *in vitro* i *in vivo*. Međutim neka istraživanja pokazuju da su vrijednosti TAC-a promjenjive, pa je tako moguće izmjeriti niski antioksidacijski kapacitet plazme *in vivo* iako je osoba neposredno prije konzumirala hranu bogatu flavonoidima, odnosno tvari s visokim antioksidacijskim kapacitetom. To je dokaz da se flavonoidi metaboliziraju u ljudskom organizmu i da neke druge molekule (primjerice enzimi, proteini i slično) utječu na njihovu aktivnost (Sies, 2007).

Djelovanje antioksidanasa na deaktivaciju molekula slobodnih radikala opisuje se putem dva različita mehanizma: (i) prijenosom protona (eng. Hydrogen Atom Transfer, HAT) i (ii) prijenosom elektrona (eng. Single Electron Transfer, SET). Oba mehanizma imaju isti krajnji rezultat, a razlikuju se u kinetici i potrebnom ionizacijskom potencijalu za odvijanje reakcije. Dva presudna faktora koji određuju mehanizam djelovanja u reakciji su energija disocijacije veze i ionizacijski potencijal. U reakciji antioksidansa i slobodnog radikala oba mehanizma se mogu odvijati paralelno, no koji će dominirati, ovisi o strukturi i svojstvima antioksidansa, te o topljivosti i pH vrijednosti otapala (Bendary i sur., 2013).

HAT (Hydrogen Atom Transfer) metode se zasnivaju na praćenju kinetike konkurentne reakcije antioksidansa i supstrata. Prati se brzina reakcije antioksidansa i supstrata s peroksidima kroz razgradnju azo-spojeva. ET (Single Electron Transfer) metode mjere

kapacitet antioksidansa da reducira oksidans, koji pri redukciji mijenja boju. Promjena boje je pri tome izravno ovisna o koncentraciji antioksidansa u reakcijskoj smjesi (Huang i sur., 2005).

U ovom radu proučavani su rezultati antioksidacijskog kapaciteta određeni metodama DPPH i FRAP, koje se ubrajaju u ET metode mjerenja antioksidacijskog kapaciteta, obzirom su korištene u najvećem broju pregledanih radova. DPPH metoda je metoda određivanja antioksidacijskog kapaciteta pomoću radikala 1, 1 – difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Taj radikal je stabilni slobodni radikal, zahvaljujući delokaliziranom elektronu koji onemogućuje dimerizaciju (što je karakteristično za slobodne radikale). Ako se DPPH nađe u blizini molekule koja može biti donor vodikovog atoma, događa se neutralizacija radikala i molekula više nije reaktivna. Istovremeno, neutralizacijom DPPH boja otopine prelazi iz ljubičaste u prozirnu ili blago žutu. Ova metoda određivanja antioksidacijskog kapaciteta također sadržava i parametar  $EC_{50}$  (*Efficient Concentration*) koji opisuje koncentraciju supstrata koju je potrebno dodati da se aktivnost DPPH smanji za 50%. Ovdje je potrebno posebno pripaziti na stehiometrijske odnose molekula jer antioksidacijski kapacitet molekule može biti pogodovan strukturom te molekule. Promjene boje koje se događaju u ovoj metodi prate se spektrometrom pri valnoj duljini od 515 nm. (Thaipong i sur, 2006, Molyneux, 2004).

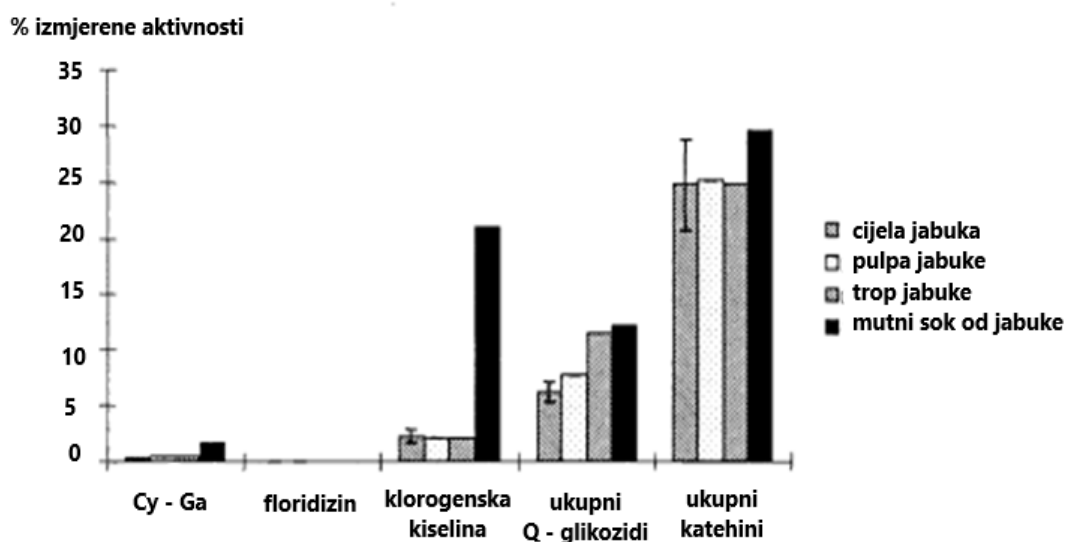
FRAP je metoda kojom se određuje antioksidacijska sposobnost redukcijom iona željeza (iz  $Fe^{3+}$  u  $Fe^{2+}$ ). Ova metoda je također kolorimetrijska metoda kojom se određuje antioksidacijski kapacitet promjenom apsorbancije reakcijske smjese. Prati se promjena apsorbancije, koja raste u linearnoj ovisnosti s antioksidacijskim kapacitetom. Ova metoda se provodi u kiselom okruženju - pH otopine iznosi 3,6. Dolazi do redukcije  $Fe^{3+}$  iona iz soli  $Fe(III)TPTZ_2Cl_3$  u  $Fe^{2+}$  ion. Međutim, u ovoj reakciji se mjeri redoks kapacitet a ne antioksidativna aktivnost molekule. Iako se zbog jednostavnosti te dvije vrijednosti poistovjećuju, treba razumjeti da redoks potencijal nije isto što i antioksidacijski kapacitet. FRAP metoda se temelji na korelaciji te dvije vrijednosti (Huang i sur., 2005, Prior i sur., 2005)

Iako se rezultat obje metode prikazuje ovisnošću apsorbancije o koncentraciji antioksidansa, postoje neke osnovne razlike. DPPH metoda se temelji na neutralizaciji radikala uz promjenu boje, dok FRAP metoda ne sadrži radikal kao oksidans. U FRAP metodi oksidans je ion željeza. DPPH metoda traje dulje (oko 30 minuta) pa tako omogućuje praćenje koncentracija antioksidansa s duljim reakcijskim vremenom. FRAP traje 15 sekundi do 4 minute, pri višim valnim duljinama ( $\lambda = 597$  nm) (Huang i sur., 2005)

#### 2.1.4. Antioksidacijski kapacitet soka od jabuke

Budući da koncentracija BAS-a u jabuci ovisi o mnogim faktorima, isto pravilo vrijedi i za sok od jabuke. Biedrzycka i Amarowitz (2008) navode kako postoji razlika između antioksidacijskog kapaciteta svježe jabuke i soka od jabuke. Kod proizvodnje soka od jabuke prešanjem dolazi do oslobađanja dodatne količine polifenola iz dijelova jabuke koji se uobičajeno ne konzumiraju, primjerice kore i sjemenke. Ti se sastojci nakon oslobađanja tope u vodi i tako postaju sastavnim dijelom soka. Rezultati istraživanja pokazuju da sok od jabuke, u odnosu na svježe plodove, sadrži više floridizina (22-36% *vs.* 11-17%), cinamata (25-36% *vs.* 3-27%) i flavonola (2-10% *vs.* 1-10%) (Pearson i sur., 1999). Isto istraživanje je pokazalo da komercijalni sokovi od jabuke imaju potencijal u *in vitro* zaustavljanju oksidaciju LDL kolesterola.

Van der Sluis i suradnici (2002) su u svom istraživanju grafički usporedili antioksidacijski kapacitet svježe jabuke, pulpe, jabučnog tropa i soka od jabuke nakon prešanja. Rezultati su podijeljeni u 4 skupine i to prema skupinama antioksidansa. Ukupni katehini su činili skupinu s najvišim doprinosom porastu antioksidacijskog kapaciteta u soku; njihova aktivnost u svježoj jabuci je iznosila 20 %, a u soku 30 %. Antioksidacijski kapacitet glikozida kvercetina je porastao sa 6 % u svježoj jabuci na 12 % u soku od jabuke. U ovom istraživanju, koncentracije floridizina nisu pokazale značajne promjene, dok je koncentracija cijanidin-glikozida također porasla u soku od jabuke. Rezultati ove studije prikazani su na slici 5.

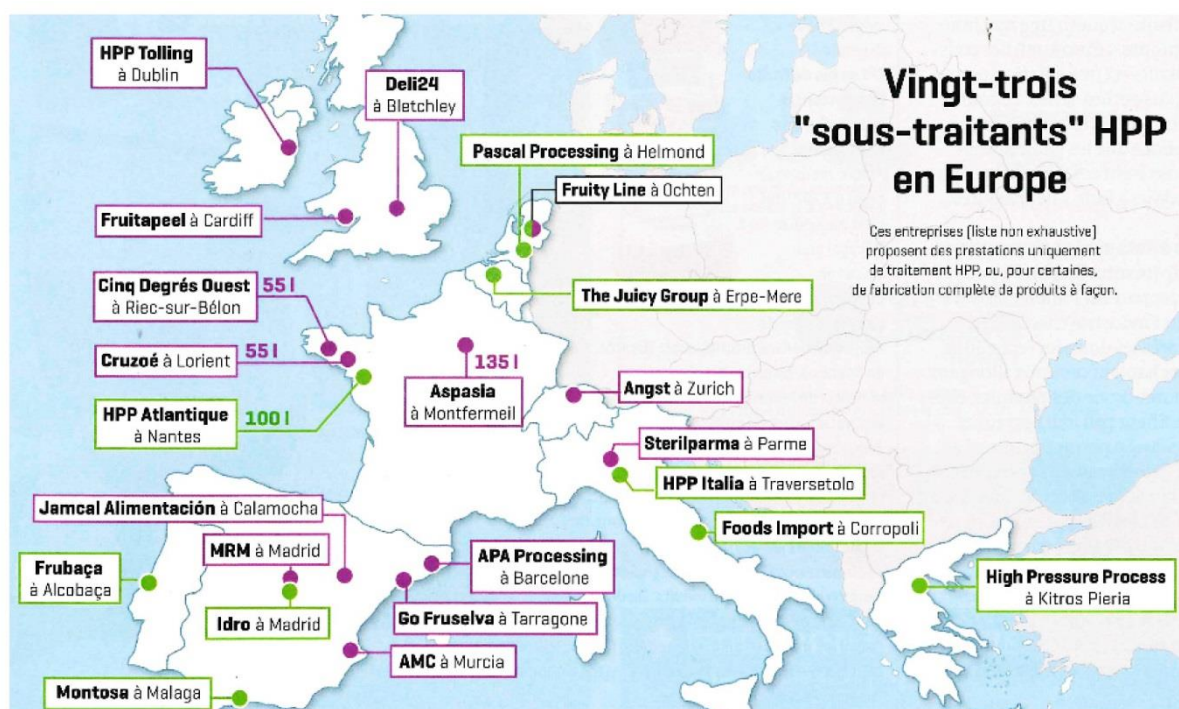


**Slika 5.** Promjena antioksidacijskog kapaciteta flavonoida i klorogenske kiseline u svježoj jabuci, pulpi, jabučnom tropu i soku od jabuke sorte Jonagold (van der Sluis i sur., 2002)



## 2.2. Visoki hidrostatski tlak

Moderno tržište danas sve više traži hranu koja je svojim organoleptičkim svojstvima što sličnija neprerađenoj tj. svježoj hrani, a istovremeno sigurna za potrošnju i s duljim rokom trajanja. Obzirom da sad korištene konvencionalne metode toplinske obrade ne mogu susresti gore navedene potrebe suvremenog potrošača, sve se više ispituju i primjenjuju nove tehnologije obrade. Jedna od tih metoda koja se sve više upotrebljava u prehrambenoj industriji je visoki hidrostatski tlak (eng. High Pressure Processing – HPP, hrv. VHT). Riječ je o netermičkoj metodi koja omogućuje uništenje vegetativnih stanica mikroorganizama bez dodatka konzervansa, a istovremeno ne narušava prirodna senzorska obilježja i nutritivnu vrijednost namirnice. Ova metoda se sve češće upotrebljava u zemljama zapadnog svijeta poput SAD-a, Kanade i Europske Unije (Huang i sur., 2017). Prikaz VHT pogona za industrijski sektor obrade voća/povrća u zemljama EU dan je na slici 6.



**Slika 6.** Prikaz VHT pogona za industrijski sektor obrade voća/povrća u zemljama EU (Gattegno, 2017)

VHT tehnologija može uspješno zamijeniti termički postupak pasterizacije primjenom tlakova od 200 do 800 MPa. Upakirani proizvod se uranja u spremnik s tekućinom (najčešće voda)

koja služi kao medij za prijenos pritiska. Uređajem se postiže visoki tlak koji na proizvode djeluje u vremenu od 1 do 15 minuta. Cijeli proces se može odvijati odvijati pri temperaturi od 20 do 25 °C, odnosno u nekim slučajevima u širem temperaturom intervalu od 2 do 45 °C (Seifret i Zude-Sasse, 2016).

Obrada namirnica VHT-om temelji se na La Chatelierovom načelu primjene visokog tlaka na zatvoreni sustav. Prema tom načelu, prilikom uporabe visokog tlaka na zatvoreni sustav, ubrzano će se događati reakcije koje omogućuju smanjenje volumena (reakcije kidanja nekovalentnih veza, poput hidrofobnih, vodikovih i ionskih). Istovremeno će se potiskivati one reakcije koje omogućuju povećanje volumena. Prema tome, kovalentne veze u sustavu na koji djeluje VHT će biti neosjetljive i stabilne (Balny i sur., 1992).

### **2.1.1. Primjena visokog hidrostatskog tlaka u industriji voćnih sokova**

Proizvodi obrađeni VHT-om, kao voćni i smoothie-sokovi, danas na tržištu predstavljaju najbrže rastuću skupinu prehrambenih proizvoda zbog dobrih senzorskih i nutritivnih svojstava. To dokazuje podatak da je u 2010. godini svega 20 kompanija proizvodilo i prodavalo VHT sokove, dok je u 2015. zabilježeno 100 brendova sokova obrađenih VHT-om. Rezultati brojnih istraživanja upućuju da VHT ili nema ili ima minimalan utjecaj na fizikalna svojstva te nutritivni i biološki sastav obrađenih proizvoda. Također, dokazano je da je VHT-om moguće inaktivirati vegetativne stanice nekih kvasaca kao i različite sojeve bakterija, čime se može osigurati dobra mikrobiološka stabilnost (Huang i sur., 2017).

Zbog sve veće popularnosti sokova tretiranih VHT-om, provedena su razna istraživanja s ciljem praćenja fizikalnih svojstava, mikrobiološke kvalitete te nutritivnog i biološkog sastava sokova i smoothie-a. Yi i suradnici (2017) su u svom istraživanju pratili kvalitetu mutnog soka od jabuke tretiranog VHT-om (600 MPa, 3 minute). Praćene su promjene boje i okusa. Autori navode da enzimi prirodno prisutni u jabuci (polifenol oksidaza, PPO i peroksidaza, POD) svojom aktivnošću nakon pakiranja značajno utječu na kvalitetu soka i atraktivnost kod potrošača. Rezultati istraživanja su pokazali da sok tretiran VHT-om nema značajne razlike u boji u odnosu na svježije prešani mutni sok od jabuke. Međutim, boja soka termički tretiranog (85 °C/5 min) razlikovala se od boje svježeg soka. U istraživanju je navedeno da, iako dolazi do početne promjene boje, zbog termičke inaktivacije enzima PPO i POD, ne očekuje se daljnja promjena za vrijeme skladištenja termički obrađenog soka. S druge strane VHT ne utječe na inaktivaciju ovih enzima, pa je moguće očekivati promjenu boje kod ovako

tretiranog soka. U ovom je istraživanju praćena i promjena spojeva koji su nositelji arome (šećeri, kiseline, aldehidi, ketoni, alkoholi, organosulfati i dr.). Dokazano je da VHT ne utječe na koncentraciju šećera i kiselina, oni ostaju stabilni, stoga ne dolazi do promjene okusa. Druge komponente okusa, poput aldehida, alkohola i organosulfata, dokazane su u višoj koncentraciji kod termički pasteriziranog soka nego kod VHT soka, što se pripisuje Millardovim reakcijama i oksidaciji potaknutoj visokim temperaturama.

Voćni sokovi i smoothie-i zbog velike količine šećera i drugih nutrijenata te visoke vrijednosti aktiviteta vode čine idealnu podlogu za rast mikroorganizama. Mikroorganizmi koji posebno dobro rastu u voćnim sokovima su kvasci, plijesni i bakterije mliječne kiseline, odnosno, oni mikroorganizmi koji su prilagođeni na rast uz niži pH (Zacconi i sur., 2015).

U nekoliko je istraživanja potvrđen utjecaj VHT-a na mikrobiološku kvaitetu tretiranih proizvoda. Juarez-Enriquez i sur. (2014) su testirali rast mikroorganizama u soka od jabuke nakon 34 dana od tretmana VHT-om (430 MPa, 7 minuta). Svi testovi su pokazali negativan rezultat, odnosno sok je cijelo vrijeme skladištenja bio mikrobiološki stabilan. Ovo istraživanje je pokazalo da se VHT-om osigurava dobra mikrobiološka kvaliteta tretirane namirnice, budući da su uzorci bili skladišteni na 4°C i 20°C. Varela-Santos i sur. (2012) su pratili mikrobiološku kvaitetu soka od nara, tretiranog VHT-om (350 MPa, 150 sekundi). Nakon 35 dana skladištenja na 4 °C, uzorci nisu pokazali rast mjerljive količine mikroorganizama, iako je sok prije tretiranja bio inokuliran s mikrobiološkim kulturama kako bi se dokazao pasterizacijski efekt VHT-a.

### **2.1.2. Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka na antioksidacijski kapacitet voćnih sokova**

Rezultati brojnih istraživanja provedenih na sokovima obraćenih VHT-om, pokazali su da se sastav antioksidansa mijenja nakon tretmana visokim tlakom.

Rezultati istraživanja u kojem se usporedno pratila antioksidacijska aktivnost i ukupni fenoli u smoothie-ma tijekom 30 dana skladištenja pokazali su da vrsta tretmana znaćajno utjeće na antioksidanse u soku. Uzorci smoothie-a su pripremljeni od jagode, jabuke, soka od jabučnog koncentrata, banane i naranće te homogenizirani u blenderu 3 minute. Uzorci su bili podijeljeni u dvije skupine: termički tretirani (70, 80 i 90 °C, 10 minuta) i tretirani VHT-om (450 MPa u vremenima od 1, 3 i 5 minuta). Antioksidacijski kapacitet je mjeran metodama FRAP i DPPH, a ukupni fenoli mjereni su Folin-Ciocalteu metodom. Rezultati pokusa upućuju

da način tretiranja značajno utječe na stabilnost fenola i AOK. Termički obrađeni uzroci su imali veći antioksidacijski kapacitet, nego svježiji uzorci i uzorci tretirani VHT-om. S druge strane, uočen je suprotan trend za koncentraciju ukupnih fenola. Uzorci tretirani VHT-om nakon obrade su imali viši udio ukupnih fenola nego uzorci koji su bili termički tretirani. U prosjeku, razlika u ukupnim fenolima je iznosila 11% između uzoraka tretiranih VHT-om i pasteriziranih uzoraka. Zaključno, antioksidacijski kapacitet ili ostaje isti ili se smanjuje nakon tretmanom VHT-om. Autori ovaj trend pojašnjavaju mogućim oštećenjem staničnih membrana i organela tijekom tretmana, ali uključuju i mogućnost doprinosa drugih faktora poput vremena skladištenja (nakon 30 dana na 4 °C AOK je bio značajno smanjen). Na stabilnost antioksidanasa tijekom skladištenja utječe i zaostali otopljeni kisik u smoothijima, obzirom sokovi nisu bili pakirani pod vakuumom. Kisik stajanjem potiče stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva koji reagiraju s antioksidansima i tako smanjuju njihov kapacitet. Također, banana i jabuka iz smoothie-a imaju prirodne enzime (polifenol oksidaza i peroksidaza) koji se ne inaktiviraju VHT-om, a također utječu na AOK (Keenan i sur., 2010).

Slične rezultate su zabilježili Andres i sur. (2016) tijekom praćenja antioksidacijskog kapaciteta metodama FRAP i DPPH u smoothieu pripremljenom od soka naračne, papaje, dinje, kaše od mrkve i obranog mlijeka. Rađena je usporedba AOK-a na uzorcima tretiranim VHT-om (450 i 600 MPa, 3 minute, 20 °C) i termički tretiranim uzorcima (80 °C, 3 minute). Uzorci su skladišteni 45 dana na 4 °C. Rezultati mjereni naposredno nakon proizvodnje soka su pokazali da nema značajnog smanjenja AOK u termički tretiranim sokovima i sokovima tretiranim na 450 MPa. Međutim, vrijednosti AOK-a u soku tretiranom na 600 MPa pokazale su malen porast. Nakon 45 dana, došlo je do značajnog smanjenja AOK-a. Termički tretirani sok i sok tretiran nižim tlakom, pokazali su gubitke od 41-45 %, a sok tretiran tlakom od 600 MPa je pokazao gubitak od 61 %. Rezultati provedenog DPPH testa su pokazali da nakon skladištenja također dolazi do gubitka AOK, i to u sličnom omjeru kao i FRAP test (pasterizirani sok vs. HPP-450 sok vs. HPP-600 sok gubici iznose 13 % vs. 19 % vs. 34 %). Autori u svome tekstu navode kako se AOK može direktno povezati s koncentracijom ukupnih fenola i askorbinske kiseline u soku. Stoga se smanjenjem koncentracije ukupnih fenola i askorbinske kiseline tijekom skladištenja smanjuje i AOK. Ovim usporednim testovima moguće je zaključiti da je tlak od 450 MPa zadovoljavajuća metoda osiguranja kvalitete smoothie-a budući da stvara minimalne promjene na AOK-u u usporebi sa svježim sokom.

Promjene AOK-a slične onima u prethodna dva istraživanja potvrdilo je i istraživanje Juarez – Enriquez i sur. (2014). U svom su istraživanju pratili AOK hladno prešanog soka od jabuke,

tretiranog VHT-om (430 MPa, 7 minuta), koji je skladišten 34 dana na temperaturama 4 °C i 20 °C. AOK je praćen TEAC metodom, i prema toj metodi je početna vrijednost uzoraka iznosila  $3,68 \pm 0,01$  mmol/L. Nakon 34 dana za sok skladišten na 4 °C izmjerena je vrijednost  $3,46 \pm 0,08$  mmol/L, a AOK soka skladištenog na 20 °C  $3,42 \pm 0,07$  mmol/L. Iako je u pripremi soka bila dodana i askorbinska kiselina, tijekom 34 dana vidljivi su gubici ove kiseline. Askorbinska kiselina je antioksidans koji se prirodno nalazi u soku od jabuke, stoga ona direktno utječe na AOK soka. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da se AOK smanjuje tijekom skladištenja soka od jabuke koji je tretiran VHT-om, međutim ta smanjenja nisu značajna. Stoga autori zaključuju da je ova metoda kvalitetna zamjena za termičku pasterizaciju soka jer su zadržana organoleptička i fizikalno-kemijska svojstva, jednako kao i nutritivna kvaliteta soka.

Zhao i sur. (2016) donose zaključak kako antioksidacijski kapacitet soka prvenstveno ovisi o njegovom sastavu. Antioksidacijski kapacitet će primarno ovisiti o degradaciji ili održavanju dominantnog antioksidansa za vrijeme skladištenja. U svom pregledu znanstvenih članaka iznose različite rezultate koji pokazuju da tretman VHT-om ne mijenja sastav nekih sokova poput soka od papaje, budući da visoki tlak denaturira kompleks karotenoid-protein i tako omogućuje dodatno oslobađanje karotenoida. S druge strane, VHT ima utjecaj na sokove poput soka od naranče, čiji antioksidacijski kapacitet većinom čini askorbinska kiselina.

### **3. ZAKLJUČAK**

Obrada prehrambenih proizvoda visokim hidrostatskim tlakom (VHT) je moderna, netermička metoda obrade kojom se osigurava dobra mikrobiološka kvaliteta bez narušavanja senzorskih i nutritivnih karakteristika proizvoda.

Prema pretraženoj literaturi, može se zaključiti da je VHT dobra alternativa za termički pasterizaciju sa minimalnim utjecajem na kvalitetu soka od jabuke. Istraživanja upućuju da VHT ipak može dovesti do smanjenja AOK, ali da sok od jabuke nakon skladištenja i dalje zadržava značanje koncentracije antioksidansa u usporedbi sa termički pasteriziranim sokovima. Smanjenje AOK u najvećoj mjeri pripisuje se djelovanju endogenih enzima jabuke (polifenol oksidaza i peroksidaza) i prisutnosti kisika, koji stupaju u interakcije s antioksidansima.

Nadalje, rezultati znanstvenih publikacija upućuju da stabilnost BASa i AOK značajno ovise i o parametrima obrade VHT-om. Istraživanja pokazuju da se primjenom nižih vrijednosti tlaka, primjerice 350 i 450 MPa, omogućuje veća stabilnost AOK uslijed obrade, ali i tijekom skladištenja, u usporedbi s obradom pri višim tlakovima (600 MPa). Osim procesnih parametara VHT-a, vrijeme i temperatura skladištenja također mogu utjecati na AOK.

#### 4. LITERATURA

- Anderson, J.W., (1990), Dietary Fiber and Human Health, *Hortscience* **25**, 1488-1495
- Andres, V., Villanueva, M. J., Tenorio, M. D., (2016), The effect of high-pressure processing on colour, bioactive compounds, and antioxidant activity in smoothies during refrigerated storage *Food Chemistry* **192**, 328 – 335
- Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K. Masson, P., (1992), High Pressure and Biotechnology, *Colloque INSERM* **224**, 499 - 507
- Bendary, E., Francis, R.R., Ali, H.M.G., Sarwat, M.I., El Hady, S., Antioxidant and structure–activity relationships (SARs) of some phenolic and anilines compounds, (2013), *Annals of Agricultural Sciences* **58**, 173-181
- Biedrzycka, E., Amarowicz, R., (2008), Diet and Health: Apple Polyphenols as Antioxidants, *Food Reviews International* **24**, 235-251
- Bondonno, N. P., Bondonno, C. P., Blekkenhorst, L. C., Considine, M. J., Maghzal, G., Stocker, R., ... & Croft, K. D. (2018). Flavonoid-Rich Apple Improves Endothelial Function in Individuals at Risk for Cardiovascular Disease: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Molecular nutrition & food research* **62**, 95 - 102
- Boyer, J., Hai Liu, R. (2004), Apple phytochemical and their health benefits: Review, *Nutrition Journal* **3**
- Candrawinata, V., Golding, J., Roach, P.D., Stathopoulos, (2012), From Apple to Juice – the Fate of Polyphenolic Compounds, *Food Reviews International* **29**, 276 - 293
- EUROSTAT, 2018, <<http://ec.europa.eu/eurostat> >, pristupljeno 02. Travnja 2018
- Gattegno, I. Hautespresions: Une progression en douceur. *RIA* **2017**, 788, 48–50
- Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., Scaccini, C., (2000), Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data., *Free Radical Biology and Medicine* **29**, 1106-1114
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., (2005), The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 1841 – 1856

- Huang, H.-W., Wu, S.-J., Lu, J.-K., Shyu, Y.-T., Wang, C.-Y., (2017), Current status and future trends of high-pressure processing in food industry, *Food Control* **72**, 1-8
- Juarez – Enriquez, E., Salmeron – Ochoa, L., Gutierrez – Mandez, N., Ramaswamy, H. S., Ortega – Rivas, E., (2014), *LWT – Food Science and Technology* **62**, 915 – 919
- Janick, J., Cummins, J.N., Brown, S.K. and Hemmat, M. (1996) Apples., *Fruit Breeding Vol. I*, 1–77
- Keenan, D.F., Brunton, N. P., Gormley, T. R., Butler, F., Tiwari, B. K., Patras, A., (2010), Effect of thermal and high hydrostatic pressure processing on antioxidant activity and colour of fruit smoothies, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **11**, 551–556
- Kschonsek, J., Wolfram, T., Stockl, A., Bohm, V. (2018), Polyphenolic Compounds Analysis of Old and New Apple Cultivars and Contribution of Polyphenolic Profile to the In Vitro Antioxidant Capacity, *Antioxidants (Basel)* **7**, 20
- Millet, M., Poupard, P., Le Quere, J.-M., Bauduin, R., Guyot, S., (2017), Haze in Apple-Based Beverages: Detailed Polyphenol, Polysaccharide, Protein, and Mineral Compositions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **65**, 6404-641
- Molyneux, P. (2004) The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin Journal of Science and Technology* **26**, 211-219.
- Pravilnik o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namijenjenim za konzumaciju, Narodne Novine **48**, (2013) NN 48/2013
- Prior, R.L., Xianly, W., Schaich, K., (2005), Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 4290-4302
- Portal elektroničkih izvora za hrvatsku akademsku i znanstvenu zajednicu, *Web of Science*, 2018, <<http://baze.nsk.hr/baza/web-science/>>, pristupljeno 15. Ožujka 2018.
- Sarangarajan, R., Meera, S., Rukkumani, R., Sankar, P., Anuradha, G., (2017), Antioxidant: Friend or foe?, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* **10**, 1111 - 1116
- Seifret, B.; Heim, S.; Zude - Sasse, M.(2016): Sorten Und standortspezifische Ernteterminbestimmung bei Süßkirschen anhand einfacher Analyse der Fruchtgrößenentwicklung. *Obstbau* **6**: 339-342



- Sies, H., (2007), Total Antioxidant Capacity: Appraisal of a concept, *The Journal of Nutrition* **137**, 1493 - 1495
- Shahidi, F., Ambigaipalan, P., (2015), Phenolics and polyphenols in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects: A review, *Journal of functional foods* **18**, 820 – 857
- Shen, L., Ji, H.-F., Is Antioxidant Supplement beneficial? New avenue to explore, (2017), *Trends in Food Science and Technology* **68**, 51 - 55
- Statista – The statistics portal < <https://www.statista.com/> >, pristupljeno 20. travanj 2018.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zavallos, L., Hawkins Byrne, D., (2006), Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, *Journal of Food Composition and Analysis* **19**, 669-675
- Thilakarathna, S.H.; Rupasinghe, H.P.V., (2013), Flavonoid Bioavailability and Attempts for Bioavailability Enhancement, *Nutrients* **5**, 3367-3387
- Tu, S-H., Chen, L-C., Ho, Y-S., (2016), An Apple a Day to prevent cancer formation: Reducing cancer risk with flavonoids, *Journal of Food and Drug Analysis xxx*, 1-6
- USDA Food Composition Database, National Nutrient Database, <<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/>>, pristupljeno: 15. ožujka 2018.
- Van Der Sluis, A., Dekker, M., Skrede, G., Jongen, W., (2002), Activity and Concentration of Polyphenolic Antioxidants in Apple Juice. 1. Effect of Existing Methods, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 7211-7219
- Varela – Santos, E., Ochoa – Martinez, ., Tabilo – Munizaga, G., Reyes, J. E., Perez – Won, M., Briones – Labarca, V., Morales – Castro, J., (2012), Effect of high hydrostatic pressure (HPP) on physicochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice, *Innovative food science & emerging technologies* **13**, 13 – 22
- Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D., Mattivi, F., (2004), Quantitation of Polyphenols in different apple varieties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 6532-6538
- Web stranica UN-ove organizacije za hranu i agrikulturu (Food and Agriculture Organization of the United Nations), FAOSTAT, 2018, <<http://www.fao.org/faostat/en/#home> >, pristupljeno 15. ožujka 2018.

- Wlodarska, K., Pawlak –Lemanska, K., Gorecki, T., Sikorska, E. (2017), Classification of commercial apple juices based on multivariate analysis of their chemical profiles, *International Journal of Food Properties* **20**, 1773-1785
- Wolfe, K., Xwu, X., Hai Liu, R., (2003), Antioxidant Activity of Apple Peels, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 609–614
- Wu, C.-H., Ho, Y.-S., Tsai, C.-Y., Wang, Y.-J., Tseng, H., Wei, P.-L., Lee, C.-H., Liu, R.-S., Lin, S.-Y., (2009), *In vitro* and *in vivo* study of phloretin-induced apoptosis in human liver cancer cells involving inhibition of type II glucose transporter, *Cancer Therapy* **124**, 2210-2219
- Yang, K.-C., Tsai, C.-Y., Wang, Y.-J., Wei, P.-L., Lee, C.-H., Wu, C.-H., Ho Y.-S., (2008), Apple Polyphenol phloretin potentiates the anticancer actions of paclitaxel through induction of apoptosis in human hep G2 cells, *Molecular Cancerogenesis* **48** 420 - 431
- Yi, J., Kebede, B. T., Hai Dang, D. N., Buve, C., Grauwet, T., van Lewy, A., Hu, X., Hendricky, M., (2017), Quality change during high pressure processing and thermal processing of cloudy apple juice, *Food Chemistry* **249**, 202-212
- Zacconi, C., Giosue, S., Marudelli, M., Scolari, G., (2015) Microbiological quality and safety of smoothies treated in different pressure – temperature domains: effects on indigenous fruit microbiota and *Listeria monocytogenes* and their survival during storage, *European Food Research and Technology* **241**, 317 – 328
- Zhao, G., Zhang, R., Zhang, M., (2016), Effects of high hydrostatic pressure processing and subsequent storage on phenolic contents and antioxidant activity in fruit and vegetable products, *International Journal of Food Science and Technology* **53**, 1672 – 1680

## Izjava o izvornosti

*Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mog rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.*

A handwritten signature in blue ink, reading "Lucija Boras", is positioned above a horizontal line.

Lucija Boras